This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

QP
193
B3
UC-NRLF
$B 118 225
1905
YC110167

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
RECEIVED BY EXCHANGE
Class
BIOLOGY
LIBRARY

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie
Zeitschrift für die gesamte Biochemie
unter Mitwirkung von Fachgenossen herausg. von
Franz Hofmeister
Sonder-Abdruck aus Band VII Heft 1/3

Aus der medizinischen Klinik zu Gießen.

Untersuchungen über das Zeitgesetz des menschlichen Labfermentes und dessen quantitative Bestimmung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Hohen medizinischen Fakultät der Großherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität Gießen

vorgelegt von

Georg Becker,
z. Z. Assistent am pathologischen Institut Gießen.

Braunschweig
Friedrich Vieweg und Sohn
1905

QP193
B3
BIOLOGY
LIBRARY
G

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Gießen.

Referent: **Prof. Dr. Pfannenstiel**, h. t. Decanus.

Meinem Vater.

166273

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY
OF
CALIFORNIA

Seit Hammarstens grundlegenden Arbeiten hat das Labferment in hohem Grade das Interesse der Forscher erregt. Trotz der zahlreichen Arbeiten, von deren Reichhaltigkeit Fulds Übersicht in Asher-Spiros Ergebnissen der Physiologie[1]) einen Begriff gibt, ist die praktische Verwertung des Labfermentes für die Prognose und Diagnose der Magenkrankheiten noch sehr gering. Die in dieser Richtung gemachten Versuche (Gläßner) halten der Kritik nicht stand. Der Hauptgrund hierfür liegt in dem Mangel einer exakten quantitativen Bestimmung des Labfermentes. Das Kälberlab, dessen milchwirtschaftliches Interesse zu einer Fülle wissenschaftlicher Untersuchungen geführt hat, zeigt ein gesetzmäßiges Verhalten zwischen Gerinnungszeit und Labmenge derart, daß das Produkt aus Labmenge und Gerinnungszeit konstant ist: $L \times t = C$; die Gerinnungszeiten t sind also umgekehrt proportional den Labmengen L.

Dieses Zeitgesetz der Labung, das für mittlere Zeiten schon mehrfach durch frühere Untersuchungen (Hansen, Soxhlet) als richtig erwiesen war, hat neuerdings Fuld[2]) auch für ganz kurze und sehr lange Gerinnungszeiten und beliebige Labmengen bestätigt.

Daß dieses Zeitgesetz nicht ohne weiteres auf das menschliche Labferment übertragen werden könne, ist schon von verschiedenen Autoren betont. Insbesondere hat schon Bang[3]), der zuerst die Verschiedenheit des menschlichen Labfermentes von dem Kälberlab nachwies und es im Gegensatz zu diesem, dem Chymosin, als Parachymosin bezeichnete, auf den bei beiden Fermenten verschiedenen Verlauf der Verdünnungskurven hinge-

wiesen. Die Erklärung für diesen Unterschied zeigt keine Übereinstimmung. Während Pawlow und Parastschuk[4]) z. B. in ihrer eben erschienenen Arbeit den Grund suchen in den zu länger dauernden Versuchen nötigen Verdünnungen, wodurch neben der Fermentmenge gleichzeitig die gerinnungsfördernde Säure des Magensaftes vermindert wird, führt Fuld die Abweichung des Parachymosins von dem Zeitgesetz hauptsächlich auf die bisherige Versuchsanordnung zurück, bei welcher die Labung bei Brutwärme vorgenommen und so das Ferment durch längere Einwirkung der Brut-Temperatur zerstört wurde. Fuld[5]) hat jüngst die Hoffnung erweckt, durch eine bestimmte Versuchsanordnung, eine Modifikation des Morgenrothschen[6]) Verfahrens, das Zeitgesetz auch für das Parachymosin als richtig zu erweisen. Er fand, „daß durch Überführung des Kaseins in Parakasein bei niederer Temperatur und nachfolgender 5 Minuten langer Erwärmung im Wasserbad von 40° C eine durchaus befriedigende Methode zur Bestimmung der eben zur Verkäsung eines bestimmten Milchvolumens bei bestimmter Temperatur und bestimmter Wirkungszeit genügenden Labmenge gegeben ist".

Herr Privatdozent Dr. Volhard veranlaßte mich, Versuche darüber anzustellen, ob man durch die Fuld-Morgenrothsche Versuchsanordnung die Giltigkeit des Zeitgesetzes auch für das Parachymosin nachweisen könne.

Versuchsanordnung.

Als Fermentlösung verwendeten wir Magensaft, der eine Stunde nach dem Probefrühstück ausgehebert wurde; zur Kontrolle stellten wir gleichzeitig Versuche mit Kälberlab in Form der Labessenz, wie sie in der hiesigen Molkerei gebraucht wird, an.

Es wurden in gekühlten Gläsern verschiedene Verdünnungen der labhaltigen Flüssigkeit (Labessenz und Magensaft) hergestellt, derart, daß die folgende immer die $^1/_{10}$ fache Konzentration der vorhergehenden hatte: Verdünnung I also aus 1 ccm des unverdünnten Saftes und 9 ccm Wasser, Verdünnung II aus 1 ccm von I und 9 ccm Wasser bestand, sodaß folgende Verdünnungen gewonnen wurden:

Verdünnung I $= ^1/_{10}$, Verdünnung II $= ^1/_{100}$, Verdünnung III $= ^1/_{1000}$, Verdünnung IV $= ^1/_{10000}$, Verdünnung V $= ^1/_{100000}$.

Um den weiteren Gang des Versuches an einem praktischen Beispiel durchzuführen, teile ich den mit Kälberlab angestellten Kontrollversuch mit. Es wurde in 4 Gläser von den Verdünnungen I bis IV je 1 ccm zu 10 ccm Milch gebracht, die nach der Empfehlung Fulds durch Senfölzusatz vor bakterieller Säuerung geschützt war. Diese 4 Gläser wurden

$^1/_2$ Stunde in den Eisschrank gestellt und dann für 5 Minuten in ein konstantes Warmbad von 40° C gebracht. Es zeigte sich Gerinnung in den Gläsern, die mit den Verdünnungen I und II versetzt waren, nicht in den mit III und IV versetzten Gläsern. Es genügte also, um in $^1/_2$ Stunde die Gerinnung der 10 ccm Milch hervorzurufen, der Zusatz von 1 ccm einer auf $^1/_{100}$ verdünnten Labessenz, es genügte nicht mehr 1 ccm $^1/_{1000}$ Labessenz. Um den Grenzwert der Gerinnung für $^1/_2$ Stunde genauer zu bestimmen, wurden in 9 Gläsern je $^9/_{10}$, $^8/_{10}$ usw. absteigend bis $^1/_{10}$ ccm von der Verdünnung II = $^1/_{100}$ gefüllt und zu jedem 10 ccm Milch zugegeben. Für 5 Stunden, also die 10fache Zeit, wurde derselbe Versuch angestellt, nur daß von der 10fachen Verdünnung, also von III = $^1/_{1000}$ $^9/_{10}$ bis $^1/_{10}$ ccm zugesetzt wurden. Ebenso wurde für 20 Stunden ein entsprechender Versuch angestellt.

In den folgenden Tabellen ist die Gerinnungsgrenze durch einen wagerechten Doppelstrich angezeigt.

Tabelle I.

Labessenzversuch.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	III = $^1/_{1000}$	IV = $^1/_{10000}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1

Nach dem Zeitgesetz hätte man, wenn bei dem $^1/_2$-Stundenversuch die Grenze zwischen $^2/_{10}$ und $^1/_{10}$ der Verdünnung II = $^1/_{100}$ lag, bei dem 5-Stundenversuch ebenso die Grenze zwischen $^2/_{10}$ und $^1/_{10}$ der Verdünnung III = $^1/_{1000}$ erwarten sollen, doch blieb bei zahlreichen Wiederholungen des Versuchs das Resultat dasselbe. Das Produkt aus Labmenge und Gerinnung ergibt für

$^1/_2$ Stde.: $^2/_{10} \cdot {}^1/_{100} \cdot 0{,}5 = 0{,}001$
5 Stdn.: $^2/_{10} \cdot {}^1/_{1000} \cdot 5 = 0{,}0015$
20 Stdn.: $^5/_{10} \cdot {}^1/_{10000} \cdot 20 = 0{,}001$

Derselbe Versuch mit dem Parachymosin, dem milchkoagulierenden Ferment des menschlichen Magensaftes, konnte uns das Zeitgesetz nicht bestätigen. Die Versuchsergebnisse waren folgende:

Tabelle II.

Magensaft Brückel (Freie HCl 58, Gesamtacidität 63 Alizarin, 72 Phenolphtalein).

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	II = $^1/_{100}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1
Produkt von Labmenge × Zeit	0,01	0,02

Tabelle III.

Magensaft Appel (Freie HCl 42, Gesamtac. 48 Aliz., 54 Phenolpht.)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	I und II = $^1/_{100}$	I und II
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Saftes in ccm		2–2	2–2
		1–2	1–2
	9–2	9–3	9–3
	8–2	8–3	8–3
	7–2	7–3	7–3
	6–2	6–3	6–3
	5–2	5–3	5–3
	4–2	4–3	4–3
	3–2	3–3	3–3
	2–2	2–3	2–3
	1–2	1–3	1–3
Produkt von Labmenge × Zeit	0,015	0,05	0,2

Tabelle IV.

Magensaft Korak (Freie HCl 42, Gesamtac. 49 Aliz., 60 Phenolpht.)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	0 = nativer Saft	I = $^1/_{10}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1
Produkt von Labmenge × Zeit	0,1	0,3

Tabelle V.

Magensaft Schütz (Freie HCl 24, Gesamtac. 47 Aliz., 57 Phenolpht.)

Dauer des Versuchs in Stunden	1	20
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	II = $^1/_{100}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1
Produkt von Labmenge × Zeit	0,07	0,12

Tabelle VI.

Magensaft N (Freie HCl 25, Gesamtac. 30 Aliz., 40 Phenolpht.)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	I und II = $^1/_{100}$	II = $^1/_{100}$
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Saftes in ccm		$1-^2$	
	$9-^2$	$9-^3$	$9-^3$
	$8-^2$	$8-^3$	$8-^3$
	$7-^2$	$7-^3$	$7-^3$
	$6-^2$	$6-^3$	$6-^3$
	$5-^2$	$5-^3$	$5-^3$
	$4-^2$	$4-^3$	$4-^3$
	$3-^2$	$3-^3$	$3-^3$
	$2-^2$	$2-^3$	$2-^3$
	$1-^2$	$1-^3$	$1-^3$
Produkt von Labmenge × Zeit	0,035	0,05	0,14

Tabelle VII.

Magensaft Rühl (Freie HCl 24, Gesamtac. 30 Aliz., 40 Phenolpht.)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	0 = nativer Saft	I = $^1/_{10}$	I = $^1/_{10}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1
Produkt von Labmenge × Zeit	0,1	0,3	0,4

In keinem der untersuchten Fälle fanden wir das Zeitgesetz bestätigt. Am nächsten kam ihm noch der Fall Brückel (Tabelle II). Mit Abnahme der Konzentration der Fermentlösung (des Magensaftes) trat eine dieser nicht proportionale Verzögerung und schließliche Sistierung der Gerinnung ein, das Ferment wurde in seiner Wirkung gehindert und schließlich unwirksam. Das Produkt $L \times t$ ist also nicht konstant, sondern wird mit zunehmender Zeit immer größer, und bei einer gewissen Verdünnung tritt auch bei noch so langer Zeit keine Gerinnung mehr ein.

Vergleicht man die verschiedenen Saftmengen, die in den verschiedenen Versuchen nötig waren, um eine Gerinnung hervorzurufen, so scheinen sie gar kein gesetzmäßiges Verhalten zwischen Menge und Zeit zu ergeben.

Tabelle VIII.

Grenzwerte der Gerinnung bei verschiedenen Magensäften.

Magensaft	Minimalster Zusatz, der Gerinnung hervorruft in		
	½ Stde.	5 Stdn.	20 Stdn.
Brückel	2^{-2}	4^{-3}	—
Korak	2^{-1}	6^{-2}	—
Appel	3^{-2}	1^{-2}	1^{-2}
N	7^{-2}	1^{-2}	7^{-3}
Rühl	2^{-1}	6^{-2}	2^{-2}

Daß die milchkoagulierende Kraft der einzelnen Säfte verschieden von einander sei, war ja von vornherein anzunehmen; auffallend ist aber, daß der Magensaft von Rühl, der für ½ Stunde fast der zehnfachen Konzentration (0,2) bedarf als der von Appel (0,03), in 20 Stunden fast in derselben Konzentration (0,02) wirkt wie dieser (0,01). Daß sowohl bei Rühl wie bei N., die nebenbei bemerkt genau dieselben Salzsäurewerte haben, bei dem ½-Stundenversuch sich als Grenzwert der Gerinnung die 10fache Konzentration ergab gegenüber dem 20-Stundenversuch, dürfte wohl zufällig sein, zumal der 5-Stundenversuch bei beiden ganz verschieden ausfiel. Ebenso ist die Übereinstimmung bei Korak und Rühl wohl Zufall.

In ihrer anfangs erwähnten Arbeit, in der sie die Identität des proteolytischen und Labfermentes nachzuweisen suchen, haben Pawlow und Parastschuk darauf aufmerksam gemacht, daß wir durch Zusatz verschiedener Mengen einer sauren Lösung des

Fermentes, wie sie der normale Magensaft darstellt, in der Milch den Gehalt sowohl an Ferment als auch an Säure in ein und demselben Verhältnis ändern, d. h. wenn wir z. B. die Menge des Fermentes um das Doppelte vermehren, so wächst zugleich auch die Menge der Säure auf das Doppelte an. Sie leiten daher für den sauren Magensaft die Regel ab, daß die Mengen des Fermentes sich umgekehrt proportional wie die Quadratwurzeln der Gerinnungszeiten verhalten. Wenn wir daraufhin unsere Resultate ansehen, so finden wir allerdings in 4 Fällen eine ungefähre Bestätigung wenigstens für den ½- und 5-Stundenversuch.

Tabelle IX.

Magensaft	Verhältnis der Fermentmengen	Umgekehrtes Verhältnis der Quadratwurzeln der Gerinnungszeit.
Rühl	0,2 : 0,06	$\sqrt{5} : \sqrt{1/2} = 3{,}16$
Appel	0,03 : 0,01	
Brückel	0,04 : 0,01	
Korak	0,2 : 0,06	

Die beiden übrigen Magensaftversuche gaben dagegen ein von dieser Regel ganz abweichendes Resultat.

Tabelle X.

Magensaft	Verhältnis der Fermentmengen	Umgekehrtes Verhältnis der Quadratwurzeln der Gerinnungszeit.
N	0,07 : 0,01	$\sqrt{5} : \sqrt{1/2} = 3{,}16$
Schütz	0,007 : 0,0006	$\sqrt{20} : \sqrt{1} = 4{,}47$

Da diesen vier bestätigenden Versuchen zwei nicht passende gegenüber stehen, können wir die Regel nicht verallgemeinern, zumal auch in den der Regel folgenden Versuchen eine Ausdehnung derselben auf 20 Stunden nicht möglich ist.

Das Bestreben, die zeitliche Gesetzmäßigkeit der Labwirkung unabhängig von der in verschiedenen Konzentrationen verschiedenen Säuremenge zu studieren, legte den Gedanken nahe, in dieser Beziehung für alle Konzentrationen gleiche Bedingungen zu schaffen durch Verwendung von gekochtem Saft als Verdünnungsflüssigkeit statt Wasser. Gleichzeitig wurden die zugefügten fermenthaltigen Saftmengen je zu 1 ccm mit gekochtem Saft ergänzt, eine in ähn-

licher Weise schon von Fuld verwandte Versuchsanordnung. So erhielt man Zusätze zur Milch, die verschiedene Fermentmengen, aber gleiche Säuremengen enthielten. Sollte wirklich die Verschiedenheit der zeitlichen Verhältnisse bei dem Chymosin und Parachymosin auf der gleichzeitigen Säurewirkung bei diesem beruhen, wie Pawlow-Parastschuk vermuten, so müßte bei dieser Versuchsanordnung, wo die Säuremengen gleich sind, das Zeitgesetz ($L \times t = C$) sich bestätigen. Dies ist aber nicht der Fall.

Tabelle XI.

Magensaft Brückel (Verdünnung und Auffüllung mit gekochtem Saft)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	II = $^1/_{100}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Vergleicht man die Resultate dieses Versuches mit den in Tabelle II mitgeteilten desselben Saftes ohne Verwendung gekochten Saftes, so findet man sie für den $^1/_2$-Stundenversuch gleich, beim 5-Stundenversuch tritt sogar die Gerinnung bei einer höheren Konzentration ein, wenn man gekochten Saft statt Wasser als Verdünnungsflüssigkeit benutzt. Wenn dies auch zufällig sein mag, so ist auf alle Fälle durch diese Versuchsanordnung das Zeitgesetz nicht als richtig zu erweisen, wie auch folgender Versuch bestätigt. (Siehe Tabelle XII auf Seite 14.)

Ein mit Verdünnungen dieses Mischsaftes von 0,001 ccm (= II_1) an abwärts angestellter Versuch zeigte nach 20 Stunden überhaupt keine Gerinnung. Diese Versuche bestätigen die von Lörcher[7]) gemachte Beobachtung, daß eine solche geringe Säuremenge, wie sie im Magensaft enthalten ist, nur eine unbedeutende, ernstlich nicht in Betracht kommende Eigenwirkung entfaltet.

Tabelle XII.

Mischsaft (Säurewerte: 27, 41, 55). Verdünnung und Auffüllung mit gekochtem Saft.

Dauer des Versuchs in Stunden	½	5
Konzentration der Verdünnung	I = 1/10	II = 1/100
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in 1/10 ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Da an die Möglichkeit zu denken war, daß die relativ verminderte milchgerinnende Kraft des Magensaftes bei längerer Dauer in einer Schädigung des Parachymosins durch die Verdünnungsflüssigkeit zu suchen sei, zumal wir statt der von Fuld angegebenen 1/10-Normalkochsalzlösung Leitungswasser verwandt hatten, stellten wir einen Versuch mit Magensaftverdünnungen an, die 24 Stunden gestanden hatten. Die Resultate der hiermit angestellten 5- und 20-Stundenversuche deckten sich mit den früher gefundenen und ließen uns die Verdünnung an sich als Grund der Abweichung von dem Zeitgesetz ausschließen.

Noch einen anderen Versuch stellten wir an, um die Einwirkung der Verdünnungsflüssigkeit (Wasser) auf die Fermentwirkung zu prüfen. Wir verwendeten als milchkoagulierendes Agens

A nativen Saft,

B 5 ccm nativen Saft verdünnt mit 5 ccm Wasser,

C 5 ccm von B verdünnt mit 5 ccm Wasser

und stellten damit ½-Stundenversuche an. (Siehe Tabelle XIII auf Seite 15.)

Die Gerinnung trat in den drei Fällen an den der Fermentmenge entsprechenden Stellen ein, unbeeinflußt von der verschiedenen Menge der Verdünnungsflüssigkeit.

Tabelle XIII.

Magensaft Korak.

Stammlösung	A	B	C
Menge des zugesetzten Wassers	0	5	7,5
Relative Konzentration des Ferments	4	2	1
Zusätze zu 10 ccm Milch von den Stammlösungen A, B u. C in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1
Konzentrationsverhältnis × Menge	6	5	5,5

Auch hier war also keine merkbare Schädigung des Fermentes durch die Verdünnungsflüssigkeit zu beobachten.

Schon lange ist die gerinnungsbefördernde Wirkung des Chlorcalciums und der Säuren bekannt. Insbesondere hat Pfleiderer[8]) die Säuren auf ihre die Labwirkung unterstützende Kraft untersucht. Bei der Möglichkeit, daß die Hemmung der Gerinnung bei längerer Dauer in chemischen Einflüssen beruhe, durch die das Ferment an seiner Wirkung gehindert werde, und daß die Gerinnungsförderung durch $CaCl_2$ und Säuren die Folge einer Beseitigung solcher chemischen Hemmungen sei, vermuteten wir, daß vielleicht durch Zusatz von Chlorcalcium zur Milch eine Bestätigung des Zeitgesetzes auch für das Parachymosin zu erhalten sei.

Zum Vergleich wurde gleichzeitig der Einfluß des Chlorcalciums auf das Zeitgesetz des Kälberlabs geprüft. Es wurde zu je 9 ccm Milch 1 ccm einer 20proz. Chlorcalciumlösung gesetzt.

Tabelle XIV.

Kälberlabversuch mit $CaCl_2$-Milch.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	III = $^1/_{1000}$	IV = $^1/_{10\,000}$
Menge der zu 10 ccm $CaCl_2$-Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Tabelle XV.

Versuch mit Magensaft Rühl und $CaCl_2$-Milch.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	II = $^1/_{100}$
Menge der zu 10 ccm $CaCl_2$-Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Der Chlorcalciumszusatz hat also für den $^1/_2$- und 5-Stundenversuch mit Parachymosin neben einer bedeutenden Förderung der Koagulation (fast um das 10fache) eine geringe Beeinflussung

zugunsten des Zeitgesetzes ergeben; bei dem Kälberlab blieb das Gesetz ziemlich genau bestehen.

In der Erwägung, daß die Chlorcalciumwirkung auf Ansäuerung der Milch beruhen könne (durch Umwandlung der Phosphate), stellten wir auch Versuche an mit Zusatz von Salzsäure zur Milch.

Zuvor untersuchten wir, wieviel $^1/_{10}$-Normal-HCl nötig ist, um in 10 ccm Milch eine Säurefällung hervorzurufen. Wir fanden, daß bei Zusatz von 2,2 ccm $^1/_{10}$-Normal-HCl zu 10 ccm Milch eine ganz leichte flockige Fällung, bei 4 ccm eine deutliche, ausgesprochene Fällung auftrat. Wir wählten deshalb zu den folgenden Versuchen einen Zusatz von 2 ccm Normal-HCl zu 100 Milch. Zunächst prüften wir noch den Einfluß eines solchen Zusatzes auf die Milch bei längerer Dauer ohne Labzusatz. Nach 5 stündigem Stehen im Eisschrank war diese Salzsäuremilch flüssig, dann 5 Minuten ins Warmbad gebracht, blieb sie auch hier flüssig; einige Tropfen Labessenz jetzt zugesetzt, riefen sofortige Gerinnung hervor. Anders verhielt sich die mit Salzsäure versetzte Milch nach 20 Stunden Aufenthalt im Eisschrank. Zwar kam sie auch hier flüssig aus dem Eisschrank, blieb flüssig nach 5 Minuten Warmbad, nach Zusatz eines Tropfens Labessenz gerann sie aber in einem Falle nicht, in einem zweiten gerann sie unter Bildung einer geringen Koagulation. Dieselbe Milch, die nach Warmbad und Labzusatz nicht geronnen war, gab beim Kochen eine feinflockige Fällung. Hiernach ließ sich schon voraussehen, daß zu 20-Stundenversuchen diese mit 2 HCl auf 100 versetzte Milch nicht geeignet sein würde.

Tabelle XVI.

Kälberlabversuch mit HCl-Milch (2 : 100)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	III = $^1/_{1000}$	IV = $^1/_{10000}$	IV = $^1/_{10000}$
Menge der zu 10 ccm HCl-Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1

Tabelle XVII.

Versuch mit Magensaft Rühl und HCl-Milch (2 : 100)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	I = $^1/_{10}$	II = $^1/_{100}$
Menge der zu 10 ccm HCl-Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Tabelle XVIII.

Versuch mit Magensaft N und HCl-Milch (2 : 100)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	III = $^1/_{1000}$	III = $^1/_{1000}$
Menge der zu 10 ccm HCl-Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	5
	8	8	4
	7	7	3
	6	6	2
	5	5	1
	4	4	9^{-1}
	3	3	8^{-1}
	2	2	7^{-1}
	1	1	6^{-1}

Die Versuche zeigten, daß das Zeitgesetz für Kälberlab durch Zusatz von 2 Normal-HCl zu 100 Milch nicht wesentlich alteriert wird, daß für den Magensaft eine erhebliche Annäherung an das Zeitgesetz stattfindet für den $^1/_2$- und 5-Stundenversuch, während

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bei 20 stündiger Einwirkung keine Zunahme der Gerinnung über das bei dem 5-Stundenversuch erreichte Resultat mehr stattfand.

Um zu sehen, ob durch Steigerung des Salzsäurezusatzes die Annäherung noch weiter zu treiben sei, setzten wir Versuche an mit 3 Normal-HCl auf 100 Milch; weiterzugehen verbot die oben mitgeteilte Erfahrung, daß 4 ccm $^1/_{10}$ HCl in 10 Milch eine ausgesprochene Säurefällung hervorrief. Die ganz leichte flockige Fällung, die schon bei 2,2 ccm $^1/_{10}$-Normal-HCl zu 10 Milch auftrat, glaubten wir vorerst vernachlässigen zu können. Schon der Kälberlabversuch mit Salzsäuremilch 3 : 100 zeigte eine starke Abweichung von dem Zeitgesetz.

Tabelle XIX.

Kälberlabversuch mit HCl-Milch (3 : 100)

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	IV = $^1/_{10000}$	IV u. V = $^1/_{100000}$
Menge der zu 10 ccm HCl-Milch zugesetzten Labessenz in ccm		3–4
		2–4
		1–4
	9–4	9–5
	8–4	8–5
	7–4	7–5
	6–4	6–5
	5–4	5–5
	4–4	4–5
	3–4	3–5
	2–4	2–5

Die Wirkung des Magensaftes N auf mit 3 Normal-HCl zu 100 versetzter Milch war folgende. (Siehe Tabelle XX auf Seite 20.)

Es zeigte sich also kein Fortschritt der Gerinnung bei dem 5-gegenüber dem $^1/_2$-Stundenversuch; die mit 0,3 von der Verdünnung II (= 0,003) versetzte Milch, die schon bei dem $^1/_2$-Stundenversuch geronnen war, zeigte sich bei dem 5-Stundenversuch ganz verändert: sie bildete eine grünlich-gelbe Flüssigkeit, in der der Rest des Käses schwamm. Sie bot das Aussehen, als ob sie verdaut

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

worden sei. Die übrigen Verdünnungen hatten keine Gerinnung gegeben.

Tabelle XX.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	II und III = $^1/_{1000}$
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Magensaftes N in ccm		3–3
		2–3
		1–3
	9–3	9–4
	8–3	8–4
	7–3	7–4
	6–3	6–4
	5–3	5–4
	4–3	4–4
	3–3	3–4
	2–3	2–4

Bei der Möglichkeit, daß die Veränderungen des Käses auf Pepsinwirkung beruhten, suchten wir eine solche auszuschließen durch Zusatz von Kochsalz, das bekanntlich eine die Pepsinverdauung hemmende Wirkung hat. Allerdings war von vornherein die die Labwirkung hemmende Wirkung des Kochsalzes als störend zu erwarten [Lörcher[7])].

Es wurden 90 ccm Milch mit 2 ccm Normal-HCl und 10 ccm konzentrierter NaCl-Lösung gemischt und davon je 10 ccm mit folgenden Verdünnungen des Magensaftes N versetzt. (Siehe Tabelle XXI auf Seite 21.)

In beiden Fällen war keine Gerinnung eingetreten; die Milch erschien ganz durchsichtig und gerann nicht mehr nach Labzusatz mit Erwärmen.

Als drittes Ansäuerungs- und so gerinnungsförderndes Mittel verwendeten wir noch das primäre Kaliumphosphat, um seinen Einfluß auf das Zeitgesetz zu studieren. Die Phosphorsäure war unter der von Pfleiderer[8]) untersuchten größeren Zahl von Säuren diejenige, die am wenigsten das Lab bei der Käsebildung unterstützt, während Salzsäure die stärkste fördernde Wirkung hat.

Tabelle XXI.

Versuch mit Magensaft N und Kochsalzsalzsäuremilch.

Dauer des Versuchs in Stunden	5	20
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$ und III = $^1/_{1000}$	III und IV = $^1/_{10\,000}$
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Magensaftes in ccm	5^{-2}	5^{-3}
	4^{-2}	4^{-3}
	3^{-2}	3^{-3}
	2^{-2}	2^{-3}
	1^{-2}	1^{-3}
	9^{-3}	9^{-4}
	8^{-3}	8^{-4}
	7^{-3}	7^{-4}
	6^{-3} bis 1^{-3}	6^{-4} bis 1^{-4}

Wir setzten zu 100 ccm Milch 5 ccm KH_2PO_4-Lösung, die bei Titration gegen $^1/_{10}$-NaOH mit Phenolphthalein einen Titer von 10,5 hatte (pro ccm).

Tabelle XXII.

Kälberlabversuch mit KH_2PO_4-Milch (5 : 100) Titer 10,5.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	III = $^1/_{1000}$	IV = $^1/_{10\,000}$	V = $^1/_{100\,000}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1

Auch hier blieb das Zeitgesetz für das Kälberlab unangefochten bei dem $^1/_2$- und 5-Stundenversuch; nach 20 Stunden hatten die angesetzten Verdünnungen keine Gerinnung bewirkt, doch trat eine solche beim Kochen ein, und zwar nur bis zu der durch den punktierten Strich bezeichneten Grenze, die dem Zeitgesetz entspricht.

Tabelle XXIII.

Versuch mit Magensaft N und KH_2PO_4-Milch (5 : 100) Titer 10,5.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	0, I, II	I, II, III	II, III
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Magensaftes in ccm	2–1	2–2	2–3
	1–1	1–2	1–3
	9–2	9–3	9–4
	8–2	8–3	8–4
	7–2	7–3	7–4
	6–2	6–3	6–4
	5–2	5–3	5–4
	4–2	4–3	4–4
	3–2	3–3	3–4
	2–2	2–3	2–4
	1–2	1–3	1–4
	9–3	9–4	
	8–3	8–4	

Der Magensaftversuch N mit Phosphatmilch zeigte also keine Annäherung an das Zeitgesetz für den $^1/_2$- und 5-Stundenversuch, kein Weiterschreiten der Gerinnung bei dem 20-Stundenversuch über die bei 5 Stunden erhaltene Grenze: Auch nachträgliches Kochen vermochte keine Gerinnung hervorzurufen.

Ebenso wie bei den Versuchen mit HCl-Milch probierten wir hier durch Steigerung des Säurezusatzes dem Zeitgesetz näher zu kommen. Wir setzten zu 100 Milch 9 KH_2PO_4-Lösung von dem Titer 15,5 und erhielten so eine Milch mit einem 2,7 mal größeren Säuregehalt wie bei dem vorigen Versuch.

Tabelle XXIV.

Versuch mit Magensaft Appel und KH_2PO_4-Milch (9 : 100) Titer 15,5.

Dauer der Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	III = $^1/_{1000}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in ccm	4–8	4–4
	3–8	3–4
	2–8	2–4
	1–8	1–4
	9–4	9–5
	8–4	8–5
	7–4	7–5
	6–4	6–5
	5–4	5–5

Es war in diesem Fall eine Verschiebung sehr zu Ungunsten des Zeitgesetzes eingetreten.

Der Säuregrad wurde nun noch weiter gesteigert, durch Verwendung einer konzentrierten KH_2PO_4-Lösung vom Titer 17.

Von dieser Lösung konnte zu 10 ccm Milch 6,9 zutitriert werden, bis eine feine flockige Fällung auftrat. Zu 100 ccm Milch hätten also 69 ccm KH_2PO_4 zugesetzt werden müssen, um eine Säurefällung zu erhalten. Um diese auszuschließen, verwendeten wir Milch, die auf 100 ccm Milch 20 ccm KH_2PO_4 von dem Titer 17 enthielt, also einen 6,48mal größeren Säurezusatz wie bei dem 1. Versuch (Tabelle XXIII).

Tabelle XXV.

Kälberlabversuch mit KH_2PO_4-Milch (20 : 100) Titer 17.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	20
Konzentration der Verdünnung	III = $^1/_{1000}$ u. IV = $^1/_{10000}$	IV u. V = $^1/_{100000}$	V u VI = $^1/_{1000000}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Labessenz in ccm	5–4	5–5	5–6
	4–4	4–5	4–6
	3–4	3–5	3–6
	2–4	2–5	2–6 ←
	1–4	1–5	1–6
	9–5	9–6	9–7
	8–5	8–6	8–7
	7–5	7–6	7–7

Auch hier zeigte sich wieder Giltigkeit des Zeitgesetzes für Lab bei $^1/_2$ und 5 Stunden, doch war die mit $0{,}7^{-6}$ beschickte

Milch schon verdächtig — dagegen ging bei 20 Stunden die Gerinnung weit über die zu erwartende Grenze (siehe Pfeil).

Der Magensaftversuch N mit KH_2PO_4-Milch (20 : 100), Titer 17 zeigte für den $^1/_2$- und 20-Stundenversuch das Zeitgesetz giltig.

Tabelle XXVI.

Versuch mit Magensaft N und KH_2PO_4-Milch (20 : 100) Titer 17.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	III = $^1/_{1000}$
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9
	8	8
	7	7
	6	6
	5	5
	4	4
	3	3
	2	2
	1	1

Auffallend war, daß bei dem 5-Stundenversuch die Gerinnung um eine Stelle über die zu erwartende Grenze weiter ging. Später wurde derselbe Versuch mit dem Magensaft Korak angestellt (mit anderer Milch). Das Resultat war insofern abweichend, als bei dem 5-Stundenversuch die Verdünnungen, die unterhalb der nach dem Zeitgesetz zu erwartenden Grenze lagen, halbflüssig geronnen waren, wie folgende Tabelle zeigt.

Tabelle XXVII.

Magensaft Korak und KH_2PO_4-Milch (20 : 100) Titer 17.

Dauer des Versuchs in Stunden	$^1/_2$	5	
Konzentration der Verdünnung	II = $^1/_{100}$	III = $^1/_{1000}$	
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Verdünnung in $^1/_{10}$ ccm	9	9	
	8	8	
	7	7	
	6	6	
	5	5	↑ fest
	4	4	
	3	3	halbfl.
	2	2	↓
	1	1	

Die gleichzeitig zur Kontrolle für 5 Stunden in den Eisschrank gestellte KH_2PO_4-Milch zeigte nach 5 Minuten langem Warmbad denselben halbflüssigen Zustand. Gleich nach der Bereitung in das Warmbad gebrachte KH_2PO_4-Milch blieb dagegen nach 5 Minuten flüssig, gerann sofort nach Labzusatz. Ebenso gerann die frisch bereitete Phosphatmilch beim Kochen ohne Labzusatz.

Um den Einfluß des KH_2PO_4 auf Milch ohne Labzusatz genauer zu bestimmen, stellten wir einen Reihenversuch an mit Zusätzen von 0,1 ansteigend um $^1/_{10}$ ccm bis 2,0 ccm KH_2PO_4 (Titer 13,5).

Tabelle XXVIII.

			Zahl der zu 10 ccm Milch zugesetzten $^1/_{10}$ ccm KH_2PO_4 (Titer 13,5)
	5 Min. Warmbad geronnen		20
			19
			18
			17
			16
			15
		nach	14
gekocht		5 Stun-	13
geronnen			12
		den	11
	5 Min.	Eis-	10
			9
	Warmbad	schrank	8
	flüssig	flüssig	7
			6
gekocht			5
flüssig			4
			3
			2
			1

Wenn man sich bei den Zusätzen zur Milch der Menge des primären Kaliumphosphats, die nach der Tabelle ohne Lab in 5 Stunden eine Gerinnung hervorruft (von 1,7 ccm an aufwärts zu 10 Milch), nicht zu sehr nähern will, bleiben nur solche Mengen übrig, die wie Tabelle XXIV zeigt, das Zeitgesetz nicht günstig beeinflussen.

In den folgenden Tabellen stellen wir noch einmal die eben noch geronnenen Grenzwerte der verschiedenen Versuche zusammen, um einen Überblick über den Einfluß der verschiedenen Zusätze auf das Zeitgesetz zu gewinnen. Zugleich wird dabei der gerinnungsfördernde Einfluß der Zusätze deutlich.

Tabelle XXIX.

Kälberlabversuche.

Zeit in Stunden	1/2	5
Ohne Zusatz	0,002	0,0003
$CaCl_2$ (20 Proz.) 10:100	0,0003	0,00001
HCl 2:100	0,0003	0,00002
HCl 3:100	0,00004	0,00002
KH_2PO_4 5:100 Titer 10,5	0,0002	0,0003

Eine wesentliche Alteration des Zeitgesetzes tritt also bei dem Kälberlabversuch nur bei Zusatz von HCl 3:100 ein.

Tabelle XXX.

Versuche mit Magensaft N.

Zeit in Stunden	1/2	5	20
Ohne Zusatz	0,07	0,01	0,007
HCl 2:100	0,004	0,006	
HCl 3:100	0,003	0,003	
KH_2PO_4 5:100	0,009	0,003	

Tabelle XXXI.

Versuche mit Magensaft Rühl.

Zeit in Stunden	1/2	5
Ohne Zusatz	0,2	0,06
$CaCl_2$	0,04	0,007
HCl 2:100	0,02	0,004

Da die Milch bei Chlorcalciumzusatz durch die bekannte Umwandlung der Phosphate beträchtlich angesäuert wird, so war die Möglichkeit vorhanden, daß die bewirkte Säuerung der Grund für die Gerinnungsförderung durch $CaCl_2$ sei. Dies zu entscheiden dienten folgende Versuche.

Es wurde zuerst durch $CaCl_2$-Zusatz die der Milch erteilte Säuerung bestimmt und gesehen, wieviel HCl, bezüglich KH_2PO_4 nötig seien, um der Milch die gleiche Säure zu geben. Die Titration erfolgte nach dem Vorschlage von Moritz (Deutsches Archiv f. klin. Medizin Bd. 80) unter Zusatz des gleichen Volums gesättigter NaCl-Lösung.

Tabelle XXXII.

Milch ccm	Zusatz zur Milch	Titration mit $^1/_{10}$ NaOH (Phenolpht.)	
		schwach rosa	rot
10	10 NaCl + 1 $CaCl_2$ (20 Proz.)	2,3	2,5
10	10 NaCl + 0,01 KH_2PO_4 (Titer 17)	2,4	2,6
10	10 NaCl + 0,5 $^1/_{10}$ Normal-HCl	2,3	2,5

Schon die Ergebnisse dieser Tabelle zusammen mit den Erfahrungen der früheren Versuche ließen erkennen, daß die Säuerung der Milch durch $CaCl_2$ nicht die gerinnungsfördernde Wirkung erklären könne. Dies wurde noch durch folgende Versuche bewiesen, wobei die Milch den gleichen Säuregrad: im 1. Versuch durch KH_2PO_4, im 2. durch HCl, im 3. durch $CaCl_2$, erhielt. Die Grenzwerte der Gerinnung waren sehr verschieden.

Tabelle XXXIII.

Magensaft Korak.

Art der Milch	Ohne Zusatz	KH_2PO_4 (Titer 17) 0,1 : 100	HCl (normal) 0,5 : 100	$CaCl_2$ (20 Proz.) 10 : 100
Menge des zu 10 ccm Milch zugesetzten Saftes in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9^{-1}	9^{-2}
	8	8	8^{-1}	8^{-2}
	7	7	7^{-1}	7^{-2}
	6	6	6^{-1}	6^{-2}
	5	5	5^{-1}	5^{-2}
	4	4	4^{-1}	4^{-2}
	3	3	3^{-1}	3^{-2}
	2	2	2^{-1}	2^{-2}
	1	1	1^{-1}	1^{-2}
			9^{-2}	

Trotzdem die Milch durch die drei verschiedenen Zusätze (KH_2PO_4, HCl, $CaCl_2$) den gleichen Säuretiterwert bekommen hatte, war die Gerinnungsförderung sehr verschieden: während sie bei KH_2PO_4 0,1 : 100 Milch null war, war sie bei HCl-Zusatz 0,5 : 100 über das zehnfache so stark wie ohne Zusatz, eine Beschleunigung der Gerinnung, die durch $CaCl_2$-Zusatz noch beträchtlich übertroffen wurde.

Die Wirkung des $CaCl_2$ beruht also nicht allein auf der hierdurch bewirkten Ansäuerung der Milch.

Ehe es nicht gelingt, einen gesetzmäßigen Verlauf der Verdünnungs- bzw. Zeitkurve bei dem Parachymosin zu finden, muß man sich zur quantitativen Bestimmung des Labfermentgehalts darauf beschränken, die bei bestimmter Temperatur in bestimmter Zeit zur Gerinnung eines bestimmten Milchvolumens nötige Fermentmenge = Magensaft anzugeben. Die Bedingungen müssen bei vergleichenden Versuchen so gewählt werden, daß sie immer, auch bei fermentarmen Säften, eine Gerinnung ermöglichen, anderseits ist es aus praktischen Gründen wünschenswert, die Wirkungszeit möglichst abzukürzen. Bezüglich der Temperatur erschien der Eisschrank oder das Kaltwasserbad, die nach Morgenroths Untersuchungen die konstantesten Resultate liefern, mit nachfolgendem kurzem Aufenthalt im Warmbad am geeignetsten. Die Hauptschwierigkeit lag darin, Bedingungen zu geben, unter denen in nicht zu langer Zeit auch anacide Magensäfte Milchgerinnung hervorrufen. Die geringe Labwirkung bei Säften mit fehlender Kongoreaktion ist allgemein bekannt; wir konnten sie durch folgende 5-Stundenversuche bestätigen.

Tabelle XXXIV.

5-Stundenversuch bei Achylien.

Magensaft	Thorn	Bilsing	Krug	Hildebrand
Kongo	—	—	—	—
Menge der zu 10 ccm Milch zugesetzten Saftmenge in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9	9
	8	8	8	8
	7	7	7	7
	6	6	6	6
	5	5	5	5
	4	4	4	4
	3	3	3	3
	2	2	2	2
	1	1	1	1

Die beiden ersten der zu dem Versuch verwandten Achylien (Thorn und Bilsing) stellten klassische Fälle „reiner" Achylie dar, die schon jahrelang in Beobachtung der Klinik sind; die dritte (Krug) beruhte auf Carcinom, die vierte (Hildebrand) war eine nach wenigen Tagen vorübergehende, nach Alkoholabusus akut aufgetretene Achylie. Nur der Saft dieser letzteren rief in 5 Stunden eine Gerinnung hervor, die drei andern hatten keine milchkoagulierende Wirkung in dieser Zeit. Nach 24 Stunden waren die mit 0,9 und 0,8 ccm Saft von Thorn beschickten Gläser fest geronnen, die übrigen noch flüssig.

Eine Wiederholung des Versuchs mit einer Milch, der auf 100 ccm 9 Kaliumbiphosphoricumlösung vom Titer 15,5 zugesetzt war, ergab in 5 Stunden eine Gerinnung.

Tabelle XXXV.

5-Stundenversuch bei Achylien mit KH_2PO_4-Milch.

Magensaft	Thorn	Bilsing	Hildebrand
Menge des zu 10 ccm 9proz. KH_2PO_4-Milch zugesetzten Saftes in ccm	9–1	9–1	9–2
	8–1	8–1	8–2
	7–1	7–1	7–2
	6–1	6–1	6–2
	5–1	5–1	5–2
	4–1	4–1	4–2
	3–1	3–1	3–2
	2–1	2–1	2–2
	1–1	1–1	1–2

Wir konstatierten eine Koagulation in allen Versuchsfällen nach 5 Stunden. Die umstrittene Frage, ob an dieser Gerinnung eine Überführung des Profermentes in das Ferment durch die Säure teil hat, können wir hierbei ganz unberücksichtigt lassen.

Eine Salzsäuremilch 2 n-HCl : 100 Milch, wie wir sie in früheren Versuchen verwendet hatten, ließ eine noch weitergehende Gerinnungsförderung erwarten. In der Tat erhielten wir bei allen beobachteten achylischen Säften eine Gerinnung schon in $^1/_2$ Stunde mit 2proz. HCl-Milch. (Siehe Tabelle XXXVI auf S. 30.)

Nachdem bei diesen vier Achylien die Verwendung von 2proz. HCl-Milch in $^1/_2$ Stunde eine Gerinnung ergeben hatte, erschien diese Methode geeignet zur Messung der milchkoagulierenden Kraft auch der fermentarmen Säfte. Um für saure Säfte entsprechende, die Eigenwirkung der freien HCl ausschaltende Bedingungen zu schaffen, gingen wir so vor, daß wir durch Zusatz

Tabelle XXXVI.

½-Stundenversuch bei Achylie mit 2 proz. HCl-Milch.

Magensaft	Thorn	Bilsing	Krug	Stöhr
Kongo	—	—	—	—
Menge des zu 10 ccm 2 proz. HCl-Milch zugesetzten Saftes in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9	9
	8	8	8	8
	7	7	7	7
	6	6	6	6
	5	5	5	5
	4	4	4	4
	3	3	3	3
	2	2	2	2
	1	1	1	1

von Normal- bzw. $^1/_{10}$-Normal-HCl die Verdünnung I auf die Acidität 100 brachten, bei den übrigen Verdünnungen als Verdünnungsflüssigkeit $^1/_{10}$-Normal-HCl verwendeten und so immer Flüssigkeiten mit der Acidität 100 erhielten und die zuzusetzenden $^1/_{10}$ ccm des verdünnten Saftes mit $^1/_{10}$-Normal-HCl auf 1 ccm auffüllten. Bei Verwendung einer HCl-Milch 1 : 100 erhielten wir in je 10 ccm Milch nach Zusatz des verdünnten, mit $^1/_{10}$-Normal-HCl auf 1 ccm aufgefüllten Saftes einen Aciditätsgrad, der der 2 proz. HCl-Milch bei Achylien entsprach.

Folgende Beispiele mögen das näher erläutern:

Magensaft Müller, freie HCl 47.

		Gehalt an $^1/_{10}$-Normal-HCl
Verdünnung I (= $^1/_{10}$)	5 ccm Saft	2,3
	4,77 n-HCl	47,7
	40,23 H_2O	0
	50 ccm	50,0

Verdünnung II (= $^1/_{100}$) 1 ccm von I + 9 $^1/_{10}$ n-HCl
III (= $^1/_{1000}$) 1 ccm von II + 9 $^1/_{10}$ n-HCl
IV (= $^1/_{10000}$) 1 ccm von III + 9 $^1/_{10}$ n-HCl.

Nachdem der ½stündige Tastversuch eine Gerinnung in den mit 1 ccm von I und II zu 10 ccm 1 proz. HCl-Milch beschickten Gläsern, keine in den mit 1 ccm von III und IV beschickten Gläsern ergeben hatte, wurde ein Reihenversuch angestellt, bei dem 9 Gläser mit $^9/_{10}$ absteigend bis $^1/_{10}$ ccm von der Verdünnung II versetzt, bis auf 1 ccm mit $^1/_{10}$-Normal-HCl aufgefüllt und dann mit je 10 ccm 1 proz. HCl-Milch beschickt wurden.

Die Gläser mit Zusatz von $^{8}/_{10}$ ccm an aufwärts gaben nach $^{1}/_{2}$ Stunde Gerinnung.

Tabelle XXXVII.

$^{1}/_{2}$-Stundenversuch bei acidem Saft mit Verdünnung und Auffüllung durch $^{1}/_{10}$-n-HCl.

Zusatz zu 10 ccm 1proz. HCl-Milch	Menge der Verdünnung II in $^{1}/_{10}$ ccm	Menge der Auffüllung (= $^{1}/_{10}$-n-HCl) in $^{1}/_{10}$ ccm
	9	1
	8	2
	7	3
	6	4
	5	5
	4	6
	3	7
	2	8
	1	9

Rein theoretisch betrachtet sollte man dasselbe Resultat erwarten, wenn man nach Neutralisation des Magensaftes 2proz. HCl-Milch verwendet, da man der Milch denselben Säuregrad erteilt. Dies ist nicht der Fall, was seinen Grund wohl in der großen Empfindlichkeit des Labfermentes gegen Alkalien hat.

Versuch mit neutralisiertem Magensaft Müller und 2proz. HCl-Milch.

Verdünnung I: 5 ccm Saft + 2,3 ccm $^{1}/_{10}$-NaOH + 42,7 H_2O
„ II: 1 ccm von I + 9 H_2O
„ III: 1 ccm von II + 9 H_2O
„ IV: 1 ccm von III + 9 H_2O.

Tabelle XXXVIII.

Die von der Verdünnung II zu 10 ccm 2proz. HCl-Milch zugesetzte Menge in $^{1}/_{10}$ ccm:

9	8	7	6	5	4	3	2	1

Trotz der gleichen Säurewerte war bei neutralisiertem Saft eine ganz bedeutende Gerinnungshemmung aufgetreten: Grenzwert $^{9}/_{1000}$ gegenüber $^{3}/_{1000}$ bei dem 1. Versuch.

Dasselbe Resultat ergab folgender Versuch, der außerdem zeigte, wie wenig Einfluß eine Veränderung des freien HCl-Wertes in den in Magensäften vorkommenden Grenzen (Acidität 1 bis 100) außer bei ihrer völligen Aufhebung (= Neutralisation) hat.

Von dem Saft Wommelsdorf mit 64 freier HCl wurden Verdünnungen mit einer Acidität von 100, 50 und 0 hergestellt auf folgende Weise:

Tabelle XXXIX.

Bezeichnung	A	B	C
Magensaft	5 (= 0,32 n-HCl)	5 (= 3,2 $\frac{n}{10}$-HCl)	5 (= 3,2 $\frac{n}{10}$-HCl)
Chem. Zusatz	0,68 n-HCl	1,8 $^1/_{10}$-n-HCl	3,2 $^1/_{10}$-n-Na OH
Wasser	4,32	3,2	1,8
Verdünnung I = $^1/_2$	10 ccm Ac. 100	10 ccm Ac. 50	10 ccm Ac. 0

Die Verdünnungen II = $^1/_{20}$ wurden in den drei Fällen mit je 1 ccm von A, B und C und je 9 ccm $^1/_{10}$ Normal-HCl hergestellt, als Milch wurde 1 proz. HCl-Milch verwendet.

Tabelle XL.

$^1/_2$ Stde.-Versuch.

Stammlösung	A	B	C
Die von der Verdünnung II = $^1/_{20}$ zu je 10 ccm 1 proz. HCl-Milch zugesetzte Menge in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1

5 Stdn. Versuch.

Stammlösung	A	B	C
Die von der Verdünnung II = $^1/_{20}$ zu je 10 ccm 1-proz. HCl-Milch zugesetzte Menge in $^1/_{10}$ ccm	9	9	9
	8	8	8
	7	7	7
	6	6	6
	5	5	5
	4	4	4
	3	3	3
	2	2	2
	1	1	1

Die Veränderung des freien HCl-Wertes (100 und 50) hatte bei dem $^1/_2$- und 5-Stundenversuch keinen Einfluß; Aufhebung der freien HCl dagegen durch Neutralisation hatte eine gerinnungshemmende Wirkung.

Daß eine Veränderung des freien HCl-Wertes innerhalb der praktisch vorkommenden Grenzen, also etwa vom Auftreten der Kongoreaktion an bis zur Acidität 100 bei dieser Versuchsanordnung keinen Einfluß hat, wird noch verständlicher, wenn man sich klarmacht, wie durch die Verdünnung die Säuredifferenz der verschiedenen Zusätze prozentisch immer kleiner wird, so daß bei dem obigen Versuch (W o m m e l s d o r f) die Säureunterschiede folgende sind:

Tabelle XLI.

	A	B	C	Die von Verdünnung II zugesetzten $^1/_{10}$ ccm
Salzsäuregehalt der einzelnen Labversuche von Tab. XL in ccm $\frac{n}{10}$-HCl	1,9	1,855	1,81	9
	1.8	1,76	1,72	8
	1,7	1,665	1,63	7
	1,6	1,57	1,54	6
	1,5	1,475	1,45	5
	1,4	1,38	1,36	4
	1,3	1,285	1,27	3
	1,2	1,19	1,18	2
	1,1	1,095	1,09	1

Hätten wir bei diesem Versuch die einzelnen Verdünnungen mit $^1/_{10}$-Normal-HCl je auf 1 ccm aufgefüllt wie bei dem oben mitgeteilten Versuch (Tabelle XXXVII), so wären die Aciditätsunterschiede noch geringer geworden. (Siehe Tabelle XLII auf Seite 34.)

Es folgt hieraus, daß man bei der oben geschilderten Versuchsanordnung: Herstellung und Auffüllung der Verdünnung auf 1 ccm mit $^1/_{10}$-Normal-HCl, die natürliche Verschiedenheit der Aciditätsgrade bei kongopositiver Reaktion unberücksichtigt lassen kann.

Wenn wir bei der eben geschilderten Versuchsanordnung die Verschiedenheit der Aciditätsgrade kongopositiver Säfte unberücksichtigt lassen können, können wir statt dessen ebenso gut eine 2proz. HCl-Milch als Gerinnungsobjekt benutzen, analog den Versuchen bei achylischen Säften und die Verdünnungen mit Wasser herstellen. Man ist umsomehr zu dieser Außerachtlassung der

Saftacidität berechtigt, als gerade mit höherer Acidität, wobei besonders eine Gerinnungsförderung durch die Magensäure in Betracht kommt, gewöhnlich ein relativer Fermentreichtum einhergeht, welcher beträchtliche Verdünnungen (II = $^1/_{100}$) nötig macht.

Tabelle XLII.

	A	B	C	Die von Verdünnung II zugefügten $^1/_{10}$ ccm
Salzsäuregehalt derselben Versuche wenn (wie in Versuch XXXVII) mit $\frac{n}{10}$-HCl auf 11 ccm aufgefüllt worden wäre.	2	1,955	1,91	9
	2	1,96	1,92	8
	2	1,965	1,93	7
	2	1,97	1,94	6
	2	1,975	1,95	5
	2	1,98	1,96	4
	2	1,985	1,97	3
	2	1,99	1,98	2
	2	1,995	1,99	1

Es muß noch darauf hingewiesen werden, daß die Milch möglichst frisch mit Senföl versetzt werden muß, da eine geringe, mit Lackmus oder durch den Geschmack kaum nachweisbare bakterielle Säuerung schon erhebliche Gerinnungsförderung ergibt und außerdem den Zusatz von 2proz. n-HCl nicht mehr gestattet. Es empfiehlt sich, die größere Milchmenge (10 ccm) zu der kleineren Saftmenge ($^1/_{10}$ bis $^9/_{10}$ ccm) möglichst rasch zuzugießen und dann zu schütteln, da so die gleichmäßigste Mischung zu erzielen ist.

Fassen wir zum Schluß die Ergebnisse unserer Untersuchungen noch einmal zusammen, so sind es folgende:

1. Das Zeitgesetz der Labung (Labmenge × Gerinnungszeit = C) findet für das Parachymosin keine Anwendung, auch nicht bei der Fuld-Morgenrothschen Versuchsanordnung.

2. Auch bei Ausschaltung eines verschiedenen Säuregehaltes in den Verdünnungen durch Herstellen der Verdünnungen mit gekochtem Saft und Auffüllen der verschiedenen zuzusetzenden Saftmengen mit gekochtem Saft auf 1 ccm ist das Zeitgesetz nicht giltig.

3. Die relative Abnahme der milchkoagulierenden Wirkung bei längerer Versuchsdauer hat nicht ihren Grund in den dazu nötigen Verdünnungsflüssigkeiten.

4. Der Zusatz von Calciumchlorid und Säure hat neben dem gerinnungsfördernden Einfluß auch eine Beeinflussung der zeitlichen Verhältnisse zur Folge. Für eine beschränkte Zeit (5 Stunden) gibt 2 ccm Normal-HCl auf 100 ccm Milch eine erhebliche Annäherung an das Zeitgesetz des Kälberlabs.

5. Zur quantitativen Bestimmung empfehlen wir als praktisch und für alle, auch achylische Magensäfte verwendbar: die Bestimmung der Saftmenge, die in 10 ccm einer 2 Proz. Normal-HCl enthaltenden Milch nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung im Eisschrank mit anschließendem, 5 Minuten langem Aufenthalt im Warmbad Gerinnung hervorruft.

Herrn Privatdozenten Dr. Volhard spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und reiche Unterstützung meinen herzlichen Dank aus.

Literaturverzeichnis.

[1]) Fuld, Über Milchgerinnung durch Lab. Asher und Spiro, Ergebnisse der Physiologie **1**, 1 (1902).

[2]) Fuld, Über die Milchgerinnung durch Lab. Diese Beiträge **4** (1902).

[3]) Bang, Über Parachymosin, ein neues Labferment. Pflügers Archiv **79** (1900).

[4]) Pawlow und Parastschuk, Über die ein und demselben Eiweißfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie **42**, 5 u. 6 (1904).

[5]) Fuld, Untersuchungen über das Labferment. Münch. med. Wochenschrift 1902.

[6]) Morgenroth, Über den Antikörper des Labenzyms. Centralbl. f. Bakteriologie I. Abteilg. **26** (1899).

[7]) Lörcher, Über Labwirkung. Pflügers Archiv **69** (1898).

[8]) Pfleiderer, Ein Beitrag zur Pepsin- und Labwirkung. Pflügers Archiv **66** (1897).

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Lebenslauf.

Am 23. Oktober 1881 wurde ich, Georg Becker, als Sohn des Sanitätsrats Dr. med. Becker in Friedberg, Hessen, geboren. Nach zweijährigem Besuch der Stadtschule trat ich in das Gymnasium meiner Vaterstadt über, wo ich Ostern 1900 die Reifeprüfung ablegte. Ich studierte Medizin 4 Semester in Gießen, wo ich die ärztliche Vorprüfung bestand, dann 1 Semester in München, 2 Semester in Berlin. Die beiden Schlußsemester war ich wieder in Gießen, wo ich W.-S. 04/05 die ärztliche Prüfung bestand. Zur Zeit bin ich Assistent am pathologischen Institut der Universität Gießen.

YC110167

Becker

166273

BIOLOGY LIBRARY

QP193
B3